AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
UNIVERSITÄT LEIPZIG

ÜBER JODOSOBENZOESÄURE

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER
MEDIZIN, CHIRURGIE U. GEBURTSHILFE
EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
UNIVERSITÄT LEIPZIG

VORGELEGT VON

FRIEDRICH JAHN
AUS ZWICKAU (SACHSEN)

LEIPZIG
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1914

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547019_0058

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
UNIVERSITÄT LEIPZIG

ÜBER JODOSOBENZOESÄURE

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER
MEDIZIN, CHIRURGIE U. GEBURTSHILFE
EINER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
UNIVERSITÄT LEIPZIG

VORGELEGT VON

FRIEDRICH JAHN
AUS ZWICKAU (SACHSEN)

LEIPZIG
VERLAG VON F. C. W. VOGEL
1914

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät zu Leipzig.
15. Februar 1914.

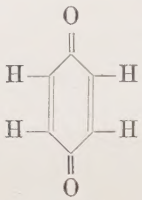
Referent: Herr Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Boehm.

In treuer Freundschaft und Dankbarkeit
gewidmet der Familie Schönfeld in Zwickau

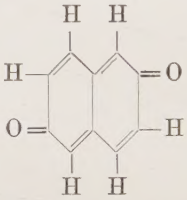
Der Ausgangspunkt vorliegender Arbeit war eine Arbeit von Sieber[1]) über Entgiftung der Toxine durch Superoxyde. Darin wurde gezeigt, daß sehr große Toxinmengen sich durch CaO_2 bzw. H_2O_2 völlig entgiften lassen. Da diese Substanzen sich für die Verwendung im Tierversuch als ungeeignet erweisen, wurde nach anderen passenderen Oxydationsmitteln Umschau gehalten. In den letzten Jahren sind eine große Zahl organischer Verbindungen mit aktivem Sauerstoff dargestellt worden; ihre Zahl dürfte 100 schon weit überschreiten. Von diesen sind einige bereits zu biologischen und therapeutischen Versuchen herangezogen worden. So das Äthylhydroperoxyd von Batelli und Stern bei der Untersuchung der Peroxydasen der Tiergewebe[2]), ferner das Benzoyl-Azetylperoxyd als wirksames Darmantiseptikum von Freer[3]). Letzterer[4]) zeigt bereits, daß die symmetrischen, beiderseits substituierten organischen Peroxyde Bakterien gegenüber unwirksam sind, daß die unsymmetrischen beiderseits substituierten Peroxyde durch Verseifung wirksam werden und daß die nur einseitig substituierten Peroxyde außerordentlich intensiv selbst auf Sporen in kürzester Zeit abtötend und auch auf Toxine zerstörend wirken, ohne per os selbst in größeren Mengen giftig zu sein. Die letzten Beispiele zeigen bereits den großen Einfluß, den Substituenten auf die Aktivität des Sauerstoffs haben, und es erscheint daher nicht aussichtslos, Verbindungen zu finden, die in bestimmter

1) Hoppe-Seyler 32, 1901, S. 573.
2) Biochem. Zeitschr. XIII, 1908, S. 44.
3) Ref. im Biochem. Zentralbl. Bd. 1, 1903, 1077.
4) Ref. im Biochem. Zentralbl. Bd. 2, 1904, 1322.

Richtung auswählend oxydieren. Damit ist chemotherapeutischen Bestrebungen der Weg geebnet. Es überschreitet den Rahmen dieser Arbeit, die physikalischen und chemischen Möglichkeiten eingehend zu erörtern und vor allem auch die Fälle spezifischer Oxydationen zu besprechen. Nur ein Beispiel beleuchte die große Bedeutung der Konstitution für das Oxydationsvermögen.



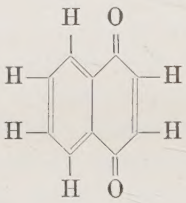
Benzochinon und



amphi-isomeres Naphtochinon

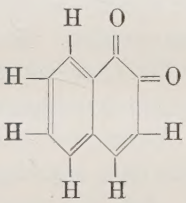
oxydieren sofort in der Kälte verdünnte Jodwasserstofflösung, oxydieren schwefelige Säure und bläuen Ferro-Ferrocyanwasserstoff.

α-Naphtochinon



zeigt diese Eigenschaften nicht.

β-Naphtochinon



oxydiert Ferro-Ferrocyanwasserstoff und schwefelige Säure, aber nicht verdünnte Jodwasserstofflösung.

Es erschien mir von Interesse, die pharmakologischen Wirkungen derartiger Substanzen mit organisch gebundenem Sauerstoff zu untersuchen. Herr Geheimrat Boehm, dem ich diese Ansichten vortrug, gestattete mir, in seinem Institut mich derartigen Studien zu widmen. Ich möchte ihm bei dieser Gelegenheit für das überaus freundliche Entgegenkommen und das rege Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, meinen herzlichsten Dank aussprechen. Herrn Dr. Gros, der mir in freundschaftlichster Weise mit Rat und Tat zur Seite stand, bin ich ebenfalls zu großer Dankesschuld verpflichtet.

Für die Untersuchung hatte ich die Terephthaldipersäure[1]) gewählt. Doch gelang ihre Darstellung nur in äußerst geringer Ausbeute. Ich wandte mich deshalb einem Präparat zu, über das schon einige Erfahrungen vorlagen, der o-Jodosobenzoesäure. Die ersten Mitteilungen hierüber stammen von R. Heinz[2]). Nach seinen Angaben soll das Präparat für Tierversuche infolge seiner stark reizenden Eigenschaften nicht anwendbar sein. Er hat es deshalb nur per os in Emulsion gegeben. Durch gleichzeitige subkutane Gaben von Jodnatrium erhielt er die Wirkung naszierenden Jods im Organismus, so daß wir über die reine Wirkung der Jodosobenzoesäure von ihm wenig erfahren. Er fand, daß es im Bindehautsack reizend wirkt, und daß eine Emulsion in 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal Blutungen und Trübungen der Serosa erzeugt. Nach seiner Ansicht wird die Säure nach der Resorption vom Magen aus im Organismus zerlegt unter Abspaltung von Jod, das dann als Jodalkali ausgeschieden wird. Eingehendere Untersuchungen stammen von Loevenhart und Grove[3]), die von ähnlichen Gesichtspunkten wie Verfasser ausgingen. Sie prüften vergleichend Jodbenzoesäure, Jodosobenzoesäure und Jodoxybenzoesäure (nach deutscher Nomenklatur Jodobenzoesäure) nebeneinander. In ihrer Arbeit findet sich auch die chemische Literatur zitert. Ich beschränke mich hier auf ihre Angaben über Jodbenzoesäure und Jodosobenzoesäure, da ich selbst mit Jodobenzoesäure keine Untersuchungen angestellt habe. — Im Auge reizt Jodbenzoesäure als freie Säure mehr als Jodosobenzoesäure. Das Natriumsalz beider Säuren $\left(\frac{n}{26}\text{-Lösung}\right)$ reizt beim Einträufeln nicht. Subkutan und intraperitoneal hat Jodosobenzoesäure gegenüber Jodbenzoesäure als Natriumsalz in $\frac{n}{30} - \frac{n}{100}$-Lösung starke Reizwirkung. — Jodosobenzoesäure ist imstande, Hämoglobin zu Oxyhämoglobin zu oxydieren unter Reduktion zu Jodbenzoesäure; ferner vermag sie bei Gegenwart der Blutperoxydase Phenolphthalin in Phenolphthalein zu oxydieren, was ich durch eigene Versuche bestätigen kann. Intravenös verursacht Jodosobenzoesäure eine geringe Abnahme der Erythrocyten und des Hämoglobins und eine mäßige Leukocytose. Auf den Blutdruck wirkt sie stark depressiv im Gegensatz zur Jodbenzoesäure, die pressiv wirkt. Die Atmung wird durch Jodbenzoesäure

1) B. B. 34, 1901, S. 766.

2) Virchows Arch. Bd. 155, 1899, S. 44.

3) The Journal of Pharmakol. and Experiment. Therapeutics. Vol. III, 1911/12, p. 101 ff.

nicht alteriert. Jodosobenzoesäure ruft einen apnöartigen Zustand bis zu drei Minuten Dauer hervor. — In einer folgenden Arbeit untersuchen die Autoren die gleichzeitige Wirkung von Blausäure und Jodosobenzoesäure und finden einen vollständigen Antagonismus, den sie als einen pharmakologischen, nicht chemischen, betrachten. — Arkin[1]) untersucht die bakterizide Wirkung der Jodbenzoesäure, Jodosobenzoesäure und Jodobenzoesäure. Er findet: Jodosobenzoesäure tötet Typhusbazillen in $\frac{n}{1000}$-Lösung ab, Bakterium Coli in einer Konzentration zwischen $\frac{n}{300} - \frac{n}{1000}$, Staphylokokkus aureus in $\frac{n}{1000}$, Bazillus Pyocyaneus zwischen $\frac{n}{300} - \frac{n}{1000}$. Jodbenzoesäure tötet Bakt. Typhi in $\frac{n}{100}$-Lösung nicht ab. Die Gegenwart von 83,3 % Blutserum oder 4 1/6 %, Gelatine vermindert die bakterizide Kraft nicht. — Eine sehr interessante Arbeit teilen Amberg und Knox[2]) mit über die Beeinflussung allergischer Reaktionen entzündlichen Charakters durch Jodoxybenzoesäure. Auf die Immunitätsverhältnisse des Organismus scheint die Substanz einen sehr tiefgehenden, günstigen Einfluß zu haben; doch müssen wir uns versagen, hier näher darauf einzugehen, da Jodoxybenzoesäure nicht in den Bereich unserer Untersuchung fällt. — In der Literatur finden sich noch Mitteilungen über die Wirkung des Jodosobenzols und des Jodobenzols[3]). Eine nähere Beschreibung dieser Verbindungen überschreitet indes den Rahmen dieser Arbeit.

Einige für das Verständnis der folgenden Untersuchungen wichtige Angaben über die chemischen Eigenschaften der untersuchten Verbindungen seien hier angegeben. Benutzt wurde o-Jodosobenzoesäure Merck, o-Jodosobenzoesäure Höchst, die mir in größerer Quantität in liberaler Weise von den Höchster Farbwerken zur Verfügung gestellt wurde, und Jodbenzoesäure Kahlbaum. Das Mercksche Präparat ist ein fast weißes Pulver und löst sich farblos in Alkalien. Jodosobenzoesäure Höchst, ebenfalls ein weißes Pulver, löst sich mit stark gelber Farbe und Jodbenzoesäure mit braungelber Farbe. Die Jodbenzoesäure bildet neutrale Salze. Die Jodosobenzoesäure ist eine sehr schwache Säure.

---

1) The Journal of Pharmakol. and Experiment. Therapeutics. Vol. III, 1911/12, p. 145.

2) Ebenda S. 223 u. Journ. of Amer. Assoz. 1912 (referiert: Deutsch. med. Wochenschr. 1912, S. 2326).

3) Fränkel, Arzneimittelsynthese 1912, S. 598 und Zentralbl. f. Biochem. Bd. 10, 1910, S. 1033.

Ihre Salze werden durch CO_2 zersetzt. Die Lösungen reagieren infolgedessen stark alkalisch. Der Jodgehalt beträgt 48,08%. Der Gehalt an aktivem Sauerstoff wurde jodometrisch bestimmt, und zwar durch Eingießen einer bestimmten in Alkali gelösten Menge Jodosobenzoesäure in eine mit überschüssiger Schwefelsäure versetzte Jodkaliumlösung. Die Säure fällt dadurch sehr fein aus, und es wird aller Sauerstoff verbraucht. Das freigemachte Jod wird mit Thiosulfat titriert. Das Mercksche Präparat hatte einen Gehalt an aktivem Sauerstoff von 6,055% gegenüber dem berechneten Werte von 6,06. Das Höchster Präparat war 5,91%ig. Die Haltbarkeit einer etwa 1%igen Lösung ist sehr gut. Am 4. November 1912 betrug der Titer einer Lösung 0,996%, am 17. Januar 1913 0,991%, am 23. Juni 1913 1,017% (möglicherweise infolge geringer Verdunstung?). — Zum Nachweis dient essigsaure Jodkaliumstärkelösung (aber selbst in Jodkalium-Natrium-Bikarbonatlösung wird Jod freigemacht), ferner Methylviolettleukobase unter Zusatz eines Tropfens stark verdünnter $CuSO_4$ oder $PtCl_4$ Lösung und Erhitzen im Wasserbad. Durch das $CuSO_4$ oder $PtCl_4$ wird die Oxydation der Leukobase außerordentlich beschleunigt. Die Verdünnung der beiden Katalysatoren, die selbst Oxydationsmittel sind, muß so stark sein, daß sie beim Erhitzen mit Leukobase allein erst sehr spät eine geringe Violettfärbung bewirken. Die Reaktion ist noch empfindlich in Verdünnung von 1 : 1000000, wie die Jodkaliumstärkereaktion. Durch Gegenwart von Eiweiß oder Harn werden beide Reaktionen beträchtlich unempfindlicher. Die Methylviolettleukobasenreaktion wurde von 25 untersuchten Farbreaktionen als einzige geeignete befunden. Man stellt am besten die Leukobase immer frisch dar durch Reduktion von Methylviolett mit Zink in essigsaurer Lösung in der Kälte. In der Wärme wird die Leukobase bei der Reduktion zerstört. — Jodbenzoesäure gibt die Reaktion natürlich nicht. — Später wurde mit gleichem Erfolg die von Adler[1] angegebene Malachitgrünleukobase benutzt.

Versuche über die Entgiftung von Abrin.

Auf Grund der zitierten Versuche von Sieber wurde versucht, Abrin durch Jodosobenzoesäure zu entgiften.

Jodosobenzoesäure wurde in einer bestimmten Menge titrierter Sodalösung in der Hitze gelöst, dann, ohne zu filtrieren, abkühlen lassen und die Lösung so weit verdünnt, daß sie 1,632% Soda enthielt. Von ungelöster Jodosobenzoesäure wurde abfiltriert. Ein bestimmtes Volum dieser Lösung wurde mit nach Kobert[2] dargestelltem in 0,9%iger Kochsalzlösung gelöstem Abrin versetzt und im Brutschrank verschieden lange Zeit stehen lassen. Als Kontrolle, um die eventuelle Wirkung der OH-Ionen auf das Abrin auszuschließen, diente ein Versuch mit 1,632%iger Natriumkarbonatlösung ohne Jodosobenzoesäure. Nach der Herausnahme aus dem

1) Hoppe-Seyler 41, 1904, S. 59.

2) Kobert, Beiträge zur Kenntnis der vegetabilischen Hämagglutinine, Berlin 1913.

Brutschrank wurden die Lösungen mit dem der angewandten Sodalösung gleichen Volumen, 1,123%iger Salzsäure versetzt. Dadurch wurde erreicht, daß die Jodosobenzoesäure ausfiel und abfiltriert werden konnte, und daß die gesamte Flüssigkeit in 0,9%ige Kochsalzlösung verwandelt wurde.

Ein bestimmter Teil des Filtrates wurde mit 5%iger Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung versetzt und die Zeit der eingetretenen Agglutination notiert. Auf diese Weise konnte man mit ziemlich starker Jodosobenzoesäurelösung arbeiten. Der titrimetrisch bestimmte Gehalt betrug 3,196% Jodosobenzoesäure. Kontrollen ergaben, daß mit diesem Verfahren eine für die Blutkörperchen isotonische Lösung erreicht wurde, die nach Zusatz von Abrinlösung gut agglutinierte. Hämolyse trat erst nach mehr als 1stündigem Stehen ein, und nach 10—12 stündigem Stehen Methämoglobinbildung, wahrscheinlich bedingt durch geringe Mengen gelöster Jodosobenzoesäure. Wenn man mit stark agglutinierenden Abrinlösungen arbeitet, spielt die eintretende Hämolyse keine Rolle. — Die Resultate waren völlig negativ. Selbst nach 24 Stunden war keine Verlängerung der Agglutinationszeit festzustellen. Freilich muß bemerkt werden, daß Abrin gerade zu den resistentesten Toxinen gehört, und daß die Verhältnisse bei anderen Toxinen möglicherweise günstiger liegen.

Bakteriologische Versuche.

Zu den Versuchen diente Bakterium Coli. Je 8 ccm sterile Bouillon wurde mit 1 ccm Jodosobenzoesäurelösung, gelöst in Natriumkarbonat, vermischt und dann 1 ccm 20fach verdünnte, 24 Stunden alte Kultur zugegeben. Die Konzentration der Jodosobenzoesäure wurde so gewählt, daß sie in 10 ccm geimpfter Bouillon 1:500 (0,2%), 1:1000 (0,1%) usw. betrug. Die Röhrchen wurden im Brutschrank 5 Tage unter Beobachtung gehalten. Die schwächste, das Wachstum eben noch hemmende Konzentration ist 1:10000, allerdings nicht ausnahmslos. Zuweilen trat auch bei dieser Konzentration nach einigen Tagen noch Trübung auf. Kontrollen mit Natriumkarbonat $\frac{1}{500}$ gaben stets nach 24 Stunden sehr starke Trübung. Jodbenzoesäure wirkt in der Konzentration $\frac{1}{100}$ noch nicht hemmend auf das Wachstum. — In der Annahme, daß vielleicht in den Versuchen mit schwächeren Konzentrationen als 1:10000 die Menge der Jodosobenzoesäure gegenüber der Bakterienmenge zu gering sei, wurden Versuche mit fallender Bakterienmenge bei einer Konzentration der Jo-

dosobenzoesäure von $\frac{1}{20\,000}$ unternommen. Aber auch hier, selbst bei Anwendung von Bakterienmengen, die ein $\frac{1}{200}$stel der Bakterienmenge betrugen, die in einer Konzentration von 1 : 1000 Jodosobenzoesäure keine Trübung mehr erzeugt, trat nach 24 Stunden starke Trübung ein. Die Konzentration 1 : 10000 scheint also tatsächlich die Grenzkonzentration für die Wachstumshemmung zu sein.

Die Frage: Ist die Wirkung der Jodosobenzoesäure eine bakterizide oder nur sterilisierende, wurde bereits von Arkin[1]) aufgeworfen. Er suchte sie dadurch zu entscheiden, daß er 24 Stunden nach Zugabe der Bakterien zu der Jodosobenzoesäure auf sterile Bouillon überimpfte und diese auf Bakterienwachstum prüfte. Nach seinen Angaben wurde Bakterium Coli in $\frac{n}{1000}$ Jodosobenzoesäure in 24 Stunden abgetötet. Den Einwand, daß mit der Übertragung der Bakterien auch gleichzeitig Jodosobenzoesäure übertragen würde und weiter ihre Wirkung ausübe, suchte er mit dem Hinweise zu entkräften, daß Jodosobenzoesäure selbst in viel höherer als in der durch die Übertragung zustande gekommenen Konzentration keine Wirkung mehr auf das Wachstum der Bakterien habe. Es besteht indes doch das Bedenken, daß diese Versuchsanordnung geeignet sei, diese Frage eindeutig zu entscheiden, besonders in Hinsicht auf die Versuche von Geppert[2]) und Croner und Naumann[3]) über die Desinfektionswirkung von Sublimat. Es ist nicht undenkbar, daß die Jodosobenzoesäure analog wie Sublimat chemisch oder physikalisch an die Bakterien gebunden wird und bei Übertragung in Bouillon nicht ohne weiteres durch Diffusion wieder abgegeben wird. Gegen Sublimat besteht allerdings insofern ein Unterschied, als die Jodosobenzoesäure während ihrer Wirkung auf die Bakterien durch Reduktion entgiftet wird und dadurch ein längere Zeit dauernder Einfluß auf die Bakterien nach der Übertragung in Bouillon nicht wahrscheinlich erscheint. Immerhin müßte man für einwandfreie Versuche, die mit den Bakterien etwa übertragene Jodosobenzoesäure durch ein für die Bakterien unschädliches Reduktionsmittel beseitigen, analog wie bei den Sublimatversuchen. Ich bin dieser Frage experimentell nicht näher nachgegangen, sondern habe noch die für chemo-

1) a. a. O.
2) Deutsch. med. Wochenschr. 1891, S. 1065.
3) Ebenda, 1911, S. 1784.

therapeutische Bestrebungen wichtige Frage zu beantworten gesucht, innerhalb welcher Zeit nach Beginn der Wirkung der Jodosobenzoesäure beim Überimpfen auf Agar (ohne Entfernung der mitübertragenen Jodosobensoesäure) ein Wachstum der Bakterien verhindert würde.

Zu diesem Zwecke wurde von einem Röhrchen mit der Konzentration 1 : 500 Jodosobenzoesäure nach verschiedenen Zeiten eine Öse auf Agar geimpft und damit Platten gegossen. Selbst nach 60 Minuten Wirkungsdauer war eine deutliche Verringerung der nach 24 Stunden gewachsenen Kolonien nicht zu erkennen. Die Versuche über mehr als 60 Minuten Wirkungsdauer auszudehnen, erschien in chemotherapeutischer Hinsicht zwecklos. Auch Zusatz von Platinchlorid in einer Konzentration im Röhrchen von 0,001% beschleunigte die Wirkung nicht (Kontrollen mit Platinchlorid allein in 0,01%iger Lösung wirkten nicht hemmend auf das Wachstum). Eine Beschleunigung hätte man erwarten können, da ja Platinchlorid die Oxydation der Methylviolettleukobase durch Jodosobenzoesäure stark beschleunigt. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß bei längerer Ausdehnung der Versuche sich doch ein Einfluß zeigt. — Versuche, die Bakterien an stärkere Konzentrationen als 1 : 10000 zu gewöhnen, waren trotz lange fortgesetzter Versuche erfolglos.

Wirkung der o-Jodosobenzoesäure auf den Frosch (Rana esculenta).

Die Untersuchung geschah in der Weise, daß steigende Mengen o-Jodosobenzoesäure, berechnet auf 100 g Tier, Fröschen in den Bauchlymphsack injiziert wurden. Die Konzentration der Lösung schwankte von 0,1—2% o-Jodosobenzoesäure, gelöst in 0,1—2%iger Natriumkarbonatlösung. Alle Tiere erhielten möglichst das gleiche Flüssigkeitsvolum injiziert, was sich je nach dem Gewicht des Tieres durch entsprechende Wahl der Konzentration leicht erreichen ließ. Es schwankte zwischen 0,5—0,8 ccm. Vorweg sei bemerkt, daß sich ein Einfluß der Konzentration innerhalb der angegebenen Grenzen bei gleichen absoluten Mengen o-Jodosobenzoesäure auf 100 g Tier weder auf die Art noch auf die Geschwindigkeit des Auftretens der Symptome erkennen ließ. Die Erscheinungen, die am schärfsten bei der eben tödlichen Dosis zu beobachten sind, beginnen damit, daß während der Injektion die Tiere lebhafte Abwehrbewegungen machen, wahrscheinlich bedingt durch lokale Reizung, in Übereinstimmung mit den erwähnten Befunden von Loevenhart bei der subkutanen

Injektion. In das Glas gesetzt, springen die Frösche während der nächsten 5 Minuten lebhaft empor. Dabei fällt auf, daß das Springen häufig recht ungeschickt geschieht. Die Tiere fallen oft auf den Rücken und drehen sich nur langsam wieder um. Ferner machen sie fast regelmäßig mit dem Kopfe merkwürdige hin- und herpendelnde, bohrende Bewegungen. Allmählich werden sie ruhiger und sitzen schließlich regungslos im Glas. Nach 15—20 Minuten machen sie beim Herausnehmen nur noch schwache Abwehrbewegungen und bleiben ruhig auf dem Tisch sitzen. Erst starkes Kneifen der Zehen läßt sie träge fortspringen. Aus Rückenlage drehen sie sich langsam um; nach ungefähr 1 Stunde sind sie auch dazu nicht mehr imstande. 2—3 Stunden nach der Injektion schwindet Atmungs- und Kornealreflex; letzterer bleibt am längsten erhalten. Er läßt sich allerdings nur auslösen, wenn man zwischen die einzelnen Reize längere Erholungspausen einschaltet. Nach dem ersten Reiz sind kurz darauffolgende wirkungslos. — Als Kriterium des eingetretenen Todes wurde das Erlöschen aller Reflexe, das Fehlen eines sichtbaren Herzstoßes und Stase in den Schwimmhautgefäßen herangezogen. Der Tod tritt bei der eben tödlichen Dosis nach 3—5 Stunden, zuweilen aber auch erst nach 24 Stunden ein; bei höheren Dosen natürlich rascher, z. B. bei der enormen Dosis von 380 mg auf 100 g Tier nach $^3/_4$ Stunde. Die tödliche Dosis liegt ziemlich scharf bei 15—17 mg o-Jodosobenzoesäure auf 100 g Tier. Die unterste Dosis, bei der eben geringe Symptome auftreten, scheint 5 mg zu sein. Doch rufen zuweilen selbst 10 mg keine Wirkung hervor. Die Unterschiede gegenüber der tödlichen Dosis sind nur quantitativer, nicht qualitativer Art. Die Tiere reagieren träger auf Reize und drehen sich nur langsam oder nach längerer Zeit aus Rückenlage um, um allmählich wieder lebhafter zu werden. Nach längstens 24 Stunden erscheinen sie wieder normal. Übertödliche Dosen ergeben das gleiche Bild wie die Dosis letalis, nur treten die Erscheinungen rascher ein.

Die Sektion der verendeten Tiere ergab folgendes: Die Extremitäten sind an den Rumpf angezogen und zeigen eine leicht lösbare Kontraktur, besonders auffällig ist dies bei übertödlichen Dosen. Einige Tiere sind auffällig zusammengekrümmt, so daß der Rücken einen starken Buckel bildet. An der Injektionsstelle ist meist nichts zu sehen, nur einige Male fanden sich stecknadelkopf- bis erbsengroße Suggillate in der Gegend des Sternum, wohl infolge Verletzung durch die Injektionsnadel. Im Bauchlymphsack finden sich 1—2 ccm einer schwach rötlich gefärbten Flüssigkeit. Die Venen sind stark mit Blut gefüllt.

Die Flüssigkeit gab nur in einem Fall, 380 mg o-Jodosobenzoesäure auf 100 g Tier, mit essigsaurer Jodkaliumstärkelösung Blau-

violettfärbung, ohne daß damit bewiesen wäre, daß in den negativen Fällen alle Jodosobenzoesäure resorbiert ist, da, wie früher auseinandergesetzt, Gegenwart von Eiweiß Blut sowohl die Methylviolettleukobasen — wie die Jodstärkereaktion in ihrer Empfindlichkeit stark herabsetzen. Das Herz zeigt ohne Regel systolischen oder diastolischen Stillstand des Ventrikels, während der Vorhof manchmal noch pulsierte. Der Ventrikel zeigte sich in einigen Fällen für mechanische oder starke faradische Reize noch erregbar. Reizung des Vorhofes führte aber niemals zur Ventrikelkontraktion. Das Herzblut erschien mikroskopisch normal. An anderen Organen zeigten sich keine auffälligen Veränderungen. Die direkte mechanische und faradische Reizbarkeit des Muskels ist erhalten, ebenso die faradische Reizung von Nerven aus, vorausgesetzt, daß die Sektion bald nach dem Tode stattfindet.

Die Symptome und der Sektionsbefund sprechen dafür, daß als Todesursache Herzvergiftung oder Lähmung des zentralen Nervensystems in Betracht zu ziehen sind. An verschiedenen Tieren wurde nach einigen Tagen nach Abklingen aller Erscheinungen eine neue Injektion vorgenommen, ohne daß dadurch eine Erniedrigung der Dosis letalis eintrat. Ein theoretisches Bedenken erhob sich gegen eine wiederholte Injektion. Wie später genauer erläutert wird, hatte Heinz bei oraler Zufuhr von o-Jodosobenzoesäure bei Kaninchen beobachtet, daß der Harn Reaktion auf Jod-Ion gab. Da ich zur Zeit der Vornahme der Froschversuche über die Ursache dieser Erscheinung noch im unklaren war und mit Heinz annahm, daß das Jod aus der Jodosobenzoesäure, beziehentlich aus der aus ihr durch Reduktion im Organismus entstehenden o-Jodbenzoesäure im Organismus abgespalten und als Jodkali ausgeschieden würde, so schien die Möglichkeit vorhanden, daß bei einer neuen Injektion von o-Jodosobenzoesäure diese mit dem im Organismus etwa noch vorhandenen Jodalkali reagierte. Denn wie erwähnt, macht o-Jodosobenzoesäure selbst in Natriumbikarbonatlösung aus Jodkali Jod frei. Es wäre also einerseits Jod in statu nascendi im Organismus zur Wirkung gekommen und andererseits eine äquivalente Menge Sauerstoff aus der Jodosobenzoesäure verbraucht worden, wodurch diese in die bei den angewendeten Mengen unwirksame Jodbenzoesäure übergeführt worden wäre. Indessen erwies sich dieses Bedenken als nicht stichhaltig; denn das Wasser, in dem sich die Frösche befanden, enthielt, wie mehrere Versuche mit den von verschiedenen Fröschen stammenden, auf dem Wasserbad eingeengten Wässern ergaben, kein Jodalkali.

Zur Kontrolle für alle Versuche, um eine etwaige Wirkung der OH-Ionen auszuschließen, wurde einigen Tieren 2 ccm 0,8%ige Natronlauge injiziert. Die Frösche zeigten keinerlei Symptome und blieben meist leben. In einigen Fällen wurde nach mehreren Tagen die Bauchhaut nekrotisch, und danach erfolgte der Exitus. Der größte Teil dieser Versuche wurde mit o-Jodosobenzoesäure-Merck ausgeführt. Versuche mit o-Jodosobenzoesäure-Höchst ergaben dasselbe Resultat.

Vergleich mit der Wirkung der o-Jodbenzoesäure.

Injiziert wurden 2—5%ige neutrale Lösungen, ansteigend von 30—200 g Jodbenzoesäure auf 100 g Tier. Symptome zeigten sich erst bei 175 mg, in einem Falle auch schon bei 100 mg. Sie bestehen in einer tiefen Narkose. Diese tritt nach 3—5 Stunden ein und ist nach 24 Stunden vorüber. Die Frösche erscheinen völlig leblos, die Extremitäten sind auffallend schlaff; nur der immer deutlich zu sehende Herzschlag verrät das Fortbestehen des Lebens. Die tödliche Dosis liegt bei ungefähr 200 mg pro 100 g Tier, doch überleben einige Tiere auch diese enorme Menge. Man kann also die o-Jodbenzoesäure fast ungiftig gegenüber der o-Jodosobenzosäure bezeichnen: liegt doch die tödliche Dosis über das Zehnfache höher.

Prüfung der o-Jodosobenzoesäure an überlebenden Organen.

Zur näheren Analyse der Giftwirkung wurden Versuche am überlebenden Froschherzen, am Muskel und am Nerv-Muskelpräparat vorgenommen.

a) Versuche am überlebenden Froschherzen.

Die Methodik war die von Straub angegebene, im hiesigen Institut übliche. Da Lösungen von jodosobenzoesaurem Natrium infolge der sehr geringen Ionisation der Jodosobonzoesäure und der daraus resultierenden fast völligen hydrolytischen Spaltung stets alkalisch reagieren, andererseits aber überlebende Organe gegen allzu hohe OH-Ionenkonzentrationen höchst empfindlich sein können, so war die Höchstkonzentration der anzuwendenden Lösungen an Jodosobenzoesäure bestimmt durch deren Löslichkeit in den bekannten für Kaltblüter isotonischen physiologischen Salzlösungen. Gewählt wurde Ringerlösung mit 1% Natriumbikarbonat, da diese am meisten OH-Ionen enthält und deshalb mehr Jodosobenzoesäure löst als andere Flüssigkeiten. Hergestellt wurden die Lösungen durch häufiges Schütteln fester

Jodosobenzoesäure mit der erwähnten Ringerlösung bei Zimmertemperatur. Nach etwa 6 Stunden waren die Lösungen größtenteils gesättigt; ihr Gehalt an Jodosobenzoesäure nahm auch bei tagelangem Stehen nicht mehr wesentlich zu. Sie wurden vor dem Gebrauch filtriert und der Gehalt an Jodosobenzoesäure jodometrisch bestimmt. Der Prozentgehalt schwankte zwischen 0,023—0,033% Jodosobenzoesäure. Durch Verdünnung mit Ringerscher Lösung wurden die gewünschten Konzentrationen hergestellt. Die Reaktion der Lösung war gegen Rosolsäure ebenso stark alkalisch wie die der Ringerschen Lösung allein. Die Versuche begannen mit 0,03%igen Lösungen.

Die Giftwirkung setzt ziemlich rasch ein. Sie äußert sich in einem Kleinerwerden der Amplitüde bei relativ geringer Abnahme der Pulsfrequenz. So sank, um ein Beispiel zu nennen, die Amplitüde von 32 mm ununterbrochen im Verlauf von 25 Minuten bis uuf 2 mm bei gleichbleibender Frequenz von 36 Schlägen, nach 65 Minuten bis auf 1 mm bei Frequenz 30. In anderen Fällen war die Frequenzabnahme etwas stärker, z. B. von 23—16 innerhalb 30 Minuten, meist war sie jedoch geringer. Nach durchschnittlich 45 bis 60 Minuten stand der Ventrikel still, während die Vorhöfe stundenlang weiterschlugen und durch ihre kräftigen Kontraktionen oft Ventrikelkontraktionen vortäuschten. In einem Falle schlugen sie noch nach 20 Stunden. Der schließlich völlige Stillstand des Herzens erfolgte in starker Systole. Bei verschiedenen Versuchen trat bei dauernder Abnahme der Amplitüde zeitweise Periodenbildung mit Erhöhung der Pulsfrequenz auf. Lösungen mit 0,02% ergaben dieselben Resultate, ohne daß sich eine Verzögerung der Giftwirkung erkennen ließe. Bei 0,01%iger Lösung tritt nur eine sehr langsame Abnahme der Amplitude ein, ohne zum Herzstillstand zu führen. Selbst nach 15 Stunden schlägt das Herz noch. Die Frequenz nimmt fast nicht ab. So sank in einem Versuch die Amplitüde innerhalb 120 Minuten von 47 auf 33 mm, die Frequenz von 22 auf 18. In weiteren 80 Minuten fiel die Amplitüde weiter bis 8 mm, die Frequenz stieg wieder bis 20. Bei noch schwächeren Konzentrationen, 0,008%, sinkt die Amplitüde entsprechend noch langsamer und bleibt dann auf einem Wert dauernd stehen. Mit dem Sinken der Konzentration wächst die Versuchszeit zur Erkennung einer sichtbaren Wirkung dauernd an, und damit werden die Resultate unsicher. Denn schon beim normalen isolierten Herz nimmt die Amplitüde allmählich ab, so daß sich schließlich Giftwirkung und spontane Abnahme der Leistungsfähigkeit nicht mehr sicher erkennen lassen.

Andererseits kann durch die Erschöpfung das Herz giftempfindlicher werden und dadurch die für das normale Herz eben nicht mehr wirksame Konzentration für das erschöpfte Herz noch giftig erscheinen lassen. Voraussetzung ist dabei, daß bei der geringen Konzentration genügende absolute Mengen des Giftes vorhanden sind. Es ist also nicht ohne weiteres möglich, durch Verringerung der Konzentration den von O. Gros[1] definierten »pharmakodynamischen Grenzwert« für die Jodosobenzoesäure aufzufinden. Die Prüfung der eben genannten Voraussetzung geschah zunächst chemisch durch Untersuchung der Herzflüssigkeit auf Jodosobenzoesäure in verschiedenen Zeiten nach Beginn des Versuches, und zwar bei der eben noch wirksamen Konzentration von 0,01%. Geprüft wurde gegen saure Jodkaliumstärkelösung. Eine Stunde nach Beginn des Versuches war die Reaktion bedeutend schwächer als am Anfang, und nach 2 Stunden war sie negativ. Man muß freilich den bedingten Wert der Reaktion berücksichtigen, da in der Herzflüssigkeit bei anderen Versuchen deutlich sich Eiweiß nachweisen ließ und dieses, wie erwähnt, die Reaktion beeinträchtigt. Immerhin läßt das völlige Verschwinden der Reaktion auf eine starke Abnahme an Jodosobenzoesäure und dadurch abnehmende Konzentration schließen. Die in 1 ccm (der gewöhnlich für einen Herzversuch angewendeten Flüssigkeitsmenge) 0,01%iger Jodosobenzoesäurelösung befindliche Menge Gift reicht eben nicht aus, um das Herz zu töten. Um bei gleicher Konzentration eine genügende Menge Jodosobenzoesäure dem Herzen zuzuführen, wurde daher zu der Methode der Herzspülung gegriffen. 30 ccm 0,01%ige Jodosobenzoesäure-Ringerlösung wurden zweimal durch das Herz gespült. Es wurde ihm also die zehnfache Menge der sicher tödlichen Dosis (1 ccm 0,03%ige Lösung) zur Verfügung gestellt. Es zeigte sich nun, daß diese Konzentration noch sehr wirksam war. Die Amplitüde fiel von 24 auf 1,5 mm innerhalb 43 Minuten, unter Ansteigen der Frequenz von 38 auf 46 Schläge. Das Herz erholte sich nicht wieder. Die Spülflüssigkeit gab nach Beendigung des Versuches noch starke Reaktion mit saurer Jodkaliumstärkelösung. Andere Versuche wurden mit 0,001%iger Lösung unternommen. Hier entsprach die absolute Menge = 1 ccm 0,03%iger Jodosobenzoesäurelösung. Dieselbe Flüssigkeitsmenge wurde zweimal durchgespült. Innerhalb 87 Minuten sank die Amplitüde von 26 mm auf 12, wo sie dann trotz weiterer Spülung blieb. Die Pulsfrequenz sank

1) Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. 70, 1912, S. 398, und Bd. 71, 1913, S. 364.

4 Minuten nach Beginn der Spülung von 41 auf 25 und ging nach 12 Minuten plötzlich auf 52 hinauf. Der Rhythmus wurde also verdoppelt. Das Sinken der Amplitüde ist hier wahrscheinlich also Folge der Verdoppelung des Rhythmus und nicht Giftwirkung, was ja auch aus ihrem Konstantbleiben auf 12 mm hervorgeht. Die Spülflüssigkeit gab am Ende des Versuches positive Reaktion auf Jodosobenzoesäure. Die Konzentration 0,001% scheint also in der Nähe des pharmakodynamischen Grenzwertes zu liegen. — Die Bestimmung dieses Grenzwertes kann nach O. Gros[1]) noch in einer anderen Weise erfolgen, indem wir das Herz mit einer Jodosobenzoesäurelösung von 0,02% vergiften bis zum Eintritt deutlicher Wirkung, dann diese Lösung aus dem Herz entfernen und sie durch eine Lösung so geringer Konzentration ersetzen, daß sich das Herz in ihr eben wieder erholt. Grundbedingung hierfür ist, daß die Vergiftung reversibel ist. Die Prüfung auf Reversibilität geschah in der Weise, daß ein Herz mit 0,02%iger Lösung vergiftet wurde, bis nach 30 Minuten die Amplitüde von 16,5 auf 2 mm gefallen war; dann wurde die Jodosobenzoesäurelösung entfernt, mehrmals Ringerlösung in die Kanüle gefüllt und wieder entfernt und schließlich das Herz sich mit Ringerlösung überlassen. Es trat keine Erholung ein. Die Kontraktionen hörten schließlich ganz auf. Das Herz war tot. Damit ist sichergestellt, daß die Vergiftung mit Jodosobenzoesäure ein irreversibler Prozeß ist, und damit war die zweite Methode zur Prüfung des pharmakodynamischen Grenzwertes ausgeschlossen. Unter der Annahme, daß die Jodosobenzoesäure ihre Giftwirkung dem aktiven Sauerstoff verdankt, müssen wir dieses Resultat theoretisch fordern. Die Vergiftung müßte in einer Zerstörung für das Herz lebenswichtiger Zellen durch Oxydation ihren Grund haben unter Reduktion der Jodosobenzoesäure zu Jodbenzoesäure. Dieser chemische Vorgang ist unter den gegebenen Bedingungen irreversibel. Bei Konzentrationen von 0,01%iger Jodosobenzoesäure und tiefer reicht die vorhandene Giftmenge nicht aus, um das Herz zu töten. Das Herz wird nur geschädigt, entgiftet aber durch diese Schädigung gleichzeitig die Jodosobenzoesäure unter Reduktion zu der in dieser Konzentration, wie wir bald sehen werden, ungiftigen Jodbenzoesäure. Mit dieser zu Ende gekommenen Schädigung schlägt das Herz dann lange Zeit mit gleicher Amplitüde weiter.

Der für die Jodosobenzoesäure gefundene pharmakodynamische Grenzwert kann rein chemische Ursachen haben. Oxydations- und

1) a. a. O. S. 365.

Reduktionsprozesse verlaufen in großen Verdünnungen sehr langsam zu Ende, ein Umstand, der sich bei maßanalytischen Arbeiten mit sehr verdünnten Flüssigkeiten unangenehm bemerkbar macht[1]). Und so kann bei der beschränkten Lebensdauer des isolierten Froschherzens die stark verdünnte Jodosobenzoesäure infolge der geringen Oxydationsgeschwindigkeit einen sichtbaren Effekt nicht zustande bringen.

Kurz zusammengefaßt ist also die Wirkung der Jodosobenzoesäure auf das isolierte Froschherz eine negativ-inotrope und, in geringerem Grade, eine negativ-chronotrope. Die Giftwirkung ist irreversibel.

Weiter oben wurde dargelegt, daß Jodosobenzoesäure Hämoglobin zu Oxyhämoglobin oxydiert unter gleichzeitiger Reduktion zu Jodbenzoesäure. Daraus ergab sich die theoretische Forderung, daß Blut eine schützende Wirkung auf das Froschherz gegenüber der Jodosobenzoesäure ausüben mußte. Der Versuch bestätigte diese Annahme. Eine 0,03 %ige Jodosobenzoesäure-Ringerlösung mit geronnenem Froschblut (nach Abgießen des Serums) versetzt und geschüttelt, zeigte eine stark verlangsamte und unvollständige Giftwirkung. Die Amplitüde fiel von 36 auf 6,5 mm nach 80 Minuten, der Puls von 31 auf 20, und von da an stieg sogar die Amplitüde wieder an bis auf 13 mm nach weiteren 100 Minuten, die Pulsfrequenz bis auf 28. Das Blut hatte also nicht nur schützend gewirkt, sondern auch noch nach Ablauf der Giftwirkung eine gewisse Erholung ermöglicht.

Vergleich mit der o-Jodbenzoesäure.

Ringerlösung mit 0,03 %iger Jodbenzoesäure, dargestellt durch Mischen entsprechender Mengen zweifachen Ringers mit neutraler jodbenzoesaurer Natriumlösung, hatte innerhalb 4 Stunden keine inotrope Wirkung, und nur eine geringe negativ-chronotrope. Die Frequenz fiel von 56 auf 48. Die Konzentration von 0,07 % bewirkte innerhalb 15 Minuten eine Steigerung der Amplitüde von 27 mm bis 35 mm, dann innerhalb weiterer 150 Minuten ein Sinken bis 21 mm, die Frequenz sank von Anfang an von 55 bis auf 41 nach 165 Minuten. 0,1 %ige Lösung wirkte im wesentlichen ebenso. 0,5 %ige Lösung bewirkte sofort ein Aufhören der normalen Frequenz. Es folgte eine langsame, bis 7 mm ansteigende Kontraktion (die Amplitüde betrug vorher 27 mm), die dann unter kleinen Oszillationen bis zur

1) Vgl. hierüber Jahn, Fr. Hoppe-Seyler Bd. 75, 1911, S. 320 ff.

Nullinie abfiel, innerhalb von 8 Minuten. Nun wurde die Jodbenzoesäure entfernt, zweimal mit Ringer gewaschen und das Herz der Erholung überlassen. Es begann sofort mit ganz kleinen Erhebungen wieder zu schlagen, die nach 21 Minuten wieder bis zur Amplitüde von 24 mm anstiegen. Ein Versuch mit 1 %iger Lösung ergab dasselbe Resultate, ja die Erholung trat sogar in 0,1 %iger Jodbenzoesäurelösung ein. Die pharmakodynamische Grenzwert liegt also bei 0,1 %. In anderen Versuchen mit 1 %iger Lösung trat keine Erholung wieder ein. Die Giftwirkung ist also im Gegensatz zur Jodosobenzoesäure reversibel. Die Toxizität ist ungefähr $\frac{1}{10}$ der Jodosobenzoesäure.

b) Versuche am Froschmuskel (Musculus gastrocnemius.

Die Muskeln wurden nach der Präparation 30 Minuten in Ringerlösung gelegt, um die durch die Präparation gesteigerte Erregbarkeit abklingen zu lassen. Danach wurden sie in die zu untersuchende Lösung gebracht. 0,03 %ige Jodosobenzoesäure-Ringerlösung bewirkte innerhalb 3 Stunden ein Sinken der direkten Erregbarkeit gegenüber dem faradischen Strom von 120—95 mm ohne initiale Erregbarkeitssteigerung. Sehr auffällig dabei war, daß der Muskel sich stark kontrahiert hatte, so daß die Zuckungen nur geringes Ausmaß hatten und an Intensität bei starken Strömen nicht zunahmen. Nach ungefähr 6 Stunden war die Erregbarkeit geschwunden, der Muskel maximal verkürzt und völlig starr. Gleichzeitig wurde er trübe und sehr fest. Die bei diesem Vorgange an der Peripherie des Muskels auftretenden Spannkräfte dokumentierten sich in einem Falle dadurch, daß der völlig frei in der Flüssigkeit liegende Muskel quere Einrisse zeigte. Möglicherweise ist der Endpunkt der Erregbarkeit infolge der Starre nicht festzustellen. Kontrollen in Ringerlösung mit dem anderen Gastrocnemius desselben Tieres ergaben ein viel langsameres Abklingen der Erregbarkeit. Der Rollenabstand betrug z. B. nach 24 Stunden noch 63 mm gegenüber 115 mm im Anfang. Dabei trat nicht die geringste Verkürzung oder Starre ein. Die am isolierten Muskel beobachteten Erscheinungen stehen in guter Übereinstimmung mit der oben beschriebenen merkwürdigen Zusammenkrümmung der Tiere nach dem Tode.

Dieser Einfluß der Jodosobenzoesäure auf den Muskel ist vielleicht als direkte elementare Wirkung der Jodosobenzoesäure auf das Muskelprotoplasma zu deuten, und zwar als eine intra vitam erfolgende Gerinnung desselben. Andererseits ist auch eine indirekte

Wirkung möglich durch Beeinflussung des Stoffwechsels des Muskels und dadurch bedingter Entstehung von Stoffwechselprodukten (organischen Säuren usw.), die Verkürzung und Starre erzeugen.

Während der Giftwirkung wird die Jodosobenzoesäure, wie beim Herzversuch schon beschrieben, ebenfalls verbraucht. Die Vergiftung ist gleichfalls irreversibel. Ein Muskel mit deutlicher Verkürzung und Abnahme der Erregbarkeit erholt sich, in Ringerlösung gebracht, nicht wieder. Versuche mit 0,01 und 0,005%iger Jodosobenzoesäurelösung ergaben mit nur geringer Verzögerung des Eintritts der Wirkung gleiche Resultate, vorausgesetzt, daß die vorhandene Menge Jodosobenzoesäure zur Vergiftung ausreichte. Dies läßt sich leicht durch öfteres Wechseln der Flüssigkeit oder einen von Anfang an großen Flüssigkeitsüberschuß erreichen.

Vergleich mit o-Jodbenzoesäure.

0,03%ige Lösung bewirkte nach 6—8 Stunden Abnahme der Erregbarkeit, ohne daß aber eine Kontraktur oder Starre eintrat. In 0,1%iger Lösung tritt diese Wirkung eher ein, aber auch hier findet man keine oder eine nur angedeutete Verkürzung. Die Vergiftung ist wie beim Herzen reversibel. Ein durch 0,3%ige Lösung nach 5 Stunden unerregbar gewordener Muskel, in Ringerlösung gebracht, beginnt nach $2\frac{1}{2}$ Stunden wieder reizbar zu werden, und nach 6 Stunden spricht er auf den faradischen Strom an bei 85 mm Rollenabstand gegenüber 120 mm im Beginn. Nach $18\frac{1}{2}$ Stunden seit Beginn beträgt der Rollenabstand noch 80 mm.

c) Versuche am Nerv-Muskelpräparat (Nervus ischiadicus).

Nach der Präparation lagen die Präparate 30 Minuten in Ringerlösung zum Abklingen der durch die Präparation erhöhten Reizbarkeit. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß das Präparat in der feuchten Kammer mit dem proximalen Nervenende in der Giftlösung lag. Gegenüber dem Kontrollpräparat in Ringerlösung ließ 0,03%ige Jodosobenzoesäurelösung, der außerdem noch feste Substanz zugesetzt war, um die Konzentration gleich zu halten, keine Differenz erkennen. Dasselbe Resultate ergab Jodbenzoesäure. Diese setzte aber in 0,3%iger Lösung innerhalb 11 Stunden die Erregbarkeit bei proximaler Reizung (nicht bei distaler) auf 0 herab. Nach Ersatz der Jodbenzoesäure durch Ringerlösung stieg die Erregbarkeit innerhalb $8\frac{1}{2}$ Stunden wieder auf 240 mm Abstand (gegen 270 mm im Anfang). Es zeigt sich also auch hier Reversibilität. Daß die Jodosobenzoe-

säure unwirksam ist, mag daran liegen, daß sie wahrscheinlich lipoidunlöslich ist (sie löst sich nicht in Äther) und deshalb in den Nerven nicht eindringen kann. Die Jodbenzoesäure dagegen ist ätherlöslich (sie läßt sich dadurch von der Jodosobenzoesäure trennen). Dadurch könnte sich ihre Wirkung verstehen lassen, wobei man freilich auch die 10fach höhere Konzentration bedenken muß.

Versuche am Kaninchen.

Die Zuführung der Jodosobenzoesäure geschah auf intravenösem Wege. Injektionsort war die freipäparierte Vena jugularis. Die Jodosolösung war 1%ig. Bei der Injektion zeigten einige Tiere keine Symptome. Meist setzte jedoch sofort ein starker Krampf ein mit Atemstillstand von 15 Sekunden bis 1 Minute Dauer. Bei weiterer Infusion ließ der Kampf nach[1]), und die Atmung setzte sehr langsam wieder ein. So wurden beispielsweise in den nächsten 4 Minuten nach dem Krampf zusammen nur 30 Atemzüge gezählt. Sie nahm ganz allmählich an Frequenz etwas zu, ohne jedoch normal zu werden. Sobald nun die Infusion etwas beschleunigt wurde, setzte ein neuer Krampf mit Atemstillstand ein. In mehreren Versuchen ließen sich diese Erscheinungen mit großer Sicherheit durch jede Beschleunigung der Infusion hervorrufen. Der Atemstillstand erfolgte in eben beginnender Inspirationsstellung. Zur genaueren Analyse dieser Erscheinung wurde die Atmung von der Trachea aus registriert und die Carotis an den Blutdruckapparat angeschlossen. Nachdem Atmung und Blutdruck gleichmäßig geworden waren, wurde mit der Infusion begonnen. Kaum waren einige Tropfen eingeflossen, als ein überaus heftiger Krampf mit Atemstillstand und rapider Blutdrucksenkung einsetzte und in wenigen Minuten trotz sofort eingeleiteter künstlicher Atmung und Herzmassage den Tod herbeiführte. Mehrere Versuche an anderen Kaninchen mit frisch hergestellten Lösungen ergaben dasselbe Resultat, auch mit 0,5%iger Lösung. Eine Registrierung von Blutdruck und Atmung war dadurch ausgeschlossen, im auffallenden Gegensatz zu den Resultaten Loevenharts (a. a. o. S. 116ff.). Die Sektion ergab in zwei Fällen ein negatives Resultat; in zwei anderen Fällen zeigte die Lunge mehr oder minder große hämorrhagische Herde und enthielt schaumig-seröse Flüssigkeit. Übereinstimmende

1) Ähnliche Erscheinungen beobachtete Amberg (a. a. O. S. 244) bei Infusion von Jodobenzoesäure an mit Pferdeserum vorher sensibilisierten Tieren: »a very transitory period of excitement« und »some respiratory distress of rather short duration«.

Resultate fand Loevenhart (a. a. O. S. 114/115): „a haemorrhagic condition of the lungs"; in anderen Fällen andererseits wieder „neither oedema nor congestion of the lungs was found at autopsy". Ähnliche Befunde erhob Amberg (a. a. O. S. 246) nach Injektion von Jodoxybenzoesäure bei allerdings vorher mit Pferdeserum sensibilisierten Tieren.

In drei anderen Versuchen starben die Tiere unter gleichen Symptomen, ohne daß hierbei irgendwelche Registrierapparate angeschlossen waren. Doch trat der Tod erst nach 8, 11 und 35 ccm 1%iger Jodosobenzoesäurelösung ein. Im dritten Fall zeigte die Lunge wieder den hämorrhagischen Zustand. Die injizierten Mengen betrugen pro Kilo 0,08 g in den zwei ersten Versuchen, 0,24 g im dritten Versuch. Im allgemeinen trat bei zahlreichen anderen Versuchen (ohne Anschluß irgendwelcher Apparate) der Tod bei 0,15 bis 0,2 g pro Kilo Tier ein[1]). Er erfolgte bei mehreren Tieren im Verlaufe von 3—8 Stunden unter den Erscheinungen zunehmender Schwäche. Der Sektionsbefund war entweder negativ oder zeigte die erwähnten Lungenbefunde. Tiere, die nur etwa 0,1 g Jodosobenzoesäure pro Kilo erhielten, überlebten meistens die Injektion ohne Schaden, sie nahmen in den nächsten Tagen immer gut zu und blieben munter wie zuvor.

Da sich eine Ursache für die plötzlichen Todesfälle (besonders bei angeschlossenen Registrierapparaten) nicht auffinden ließ (die Lunge war mehrfach auch völlig unversehrt, die Hämorrhagien könnten auch durch die heftigen Krämpfe sekundär bedingt sein), wurde erwogen, ob nicht eine durch die Präparation bedingte Läsion der Thyreoidea eine Rolle spielen könnte, da diese vielleicht eine etwaige entgiftende Funktion gegenüber der Jodosobenzoesäure besäße. Es wurde daher einem Kaninchen in Urethannarkose unter peinlichster Schonung der beiden Nervi recurrentes die Tyreoidea exstirpiert und nach 5 Tagen eine Infusion von 0,13 g Jodosobenzoesäure pro Kilo vorgenommen. Es zeigten sich die oben geschilderten Krämpfe mit Atmungsstillstand, die aber bald vorübergingen. Das Tier überlebte. Auch eine zweite Infusion derselben Menge nach 19 Tagen überstand es unter den gleichen Symptomen gut. Damit war die gemachte Annahme als unrichtig erwiesen.

Es sei bemerkt, daß alle Infusionen ohne jedwede Narkose vorgenommen wurden, um ein reines Symptomenbild zu erhalten.

---

1) Interessant ist, daß die tödliche Dosis für Jodosobenzol zwischen denselben Grenzen liegt (Zentralbl. f. Biochem. Bd. 10, 1910; S. 1033).

Bei allen überlebenden oder erst einige Stunden nach der Infusion gestorbenen Tieren wurde der Harn sofort untersucht. Er war stets frei von Eiweiß und Zucker. Auch Jodosobenzoesäure ließ sich niemals nachweisen. Freilich zeigten Kontrollversuche mit normalem Harn und zugesetzter Jodosobenzoesäure, daß der Harn die Jodkaliumstärkereaktion wie die Leukobasenreaktion stark beeinträchtigt, so daß erst größere Mengen Jodosobenzoesäure nachweisbar sind. Die Chloroformprobe mit salpetriger Säure auf Jod-Ion fiel stets negativ aus. Nach dem Veraschen mit Soda gab die mit Wasser aufgenommene und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Asche starke Jod-Ionreaktion. Das Jod war also organisch gebunden ausgeschieden worden. Diese Ausscheidung ließ sich 6 bis 8 Tage nach der Injektion verfolgen. Die veraschten Organe eines wenige Stunden nach der Infusion gestorbenen Kaninchens gaben durchweg Reaktion auf Jod-Ion. Da das Blut selbst auch eine starke Reaktion gab, so läßt sich hieraus über eine etwaige Speicherung in bestimmten Organen nichts aussagen.

Um nähere Aufschlüsse zu erhalten über die Verbindung, in der das Jod ausgeschieden wird, wurde der Harn von vier Kaninchen, die insgesamt 1,3 g Jodosobenzoesäure erhalten hatten, in mit Chloroform beschickten Gläsern aufgefangen und über Chloroform aufbewahrt. Die Gesamtmenge des Harns betrug 1900 ccm. Proben des frisch aufgefangenen Harns gaben keine Jod-Ionreaktion. 50 ccm dieses Harns wurden mit Soda verascht und der Jodgehalt der Asche durch Zusetzen von Eisenammoniumalaun in schwefelsaurer Lösung und Destillation des abgeschiedenen Jods in Jodkaliumlösung bestimmt. Diese Methode[1]) gab unter Benutzung eines geeigneten Apparates[2]) in Kontrollversuchen ausgezeichnete Resultate. Bedenken bestehen indes gegen die trockene Veraschung mit Soda insofern, als bei etwas zu starkem Erhitzen leicht Jodalkali weggeht, wie ich in mehreren Versuchen habe nachweisen können. Die von Bogdándy[3]) angegebene feuchte Veraschung gestattet keine maßanalytische Bestimmung, die bei so geringen Jodmengen hier allein in Betracht kommt. Zahlreiche eigene Versuche, die feuchte Veraschung halogenhaltiger Substanzen für eine maßanalytische Bestimmung zu benutzen, scheiterten an unüberwindlichen Schwierigkeiten. Somit kann der im folgenden angegebene Wert für den Jodgehalt des Harns nur als

1) Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chemie, II. Bd. 4. Aufl. 1907, S. 504.
2) Vgl. Buchka, Lehrb. d. quantitativen chem. Analyse S. 252.
3) Hoppe-Seyler, 84, S. 11, 1913.

Minimalwert angesehen werden. In 100 ccm Harn wurden gefunden 12,4 mg Jod. Bei der Annahme, daß das Jod in Form von Jodbenzoesäure bzw. Jodhippursäure ausgeschieden würde, ergeben sich hierfür in der Gesamtmenge des gesammelten Harns etwa 0,470 g Jodbenzoesäure, ein im Verhältnis zur Menge der injizierten Jodosobenzoesäure sehr geringer Wert.

Der gesamte übrige Harn wurde mehrmals filtriert, bis er klar ablief und dann nach den Angaben von Mosse und Neuberg[1]) auf Jodhippursäure verarbeitet. Denn die Annahme lag nahe, daß nach Reduktion der Jodosobenzoesäure zu Jodbenzoesäure diese letztere nach Paarung mit Glykokoll als Jodhippursäure ausgeschieden würde, analog wie Benzoesäure als Hippursäure im Harn erscheint.

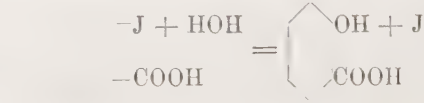
Diese Untersuchung auf Jodhippursäure verlief negativ. Es restierte eine braune, sirupöse Masse, die, mit Soda verascht, schwache Jod-Ionreaktion gab. Durch Weiterbehandeln dieser Masse mit Äther, Auflösung in heißem Wasser und Ausfällung mit verdünnter H_2SO_4 ergab sich schließlich einerseits ein geringer brauner Rückstand, der mit $AgNO_3$ und konzentrierter HNO_3 behandelt und verascht einen gelblichen Rückstand, wahrscheinlich Jodsilber, hinterließ; andererseits ließ sich eine geringe Menge weißer Kristallnädelchen gewinnen. Diese ergab den Schmelzpunkt 122,0 und nach nochmaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser 121,5 und sublimierte beim Erhitzen. Mit großer Wahrscheinlichkeit handelte es sich um Benzoesäure (Schmelzpunkt 121,4), einen normalen Bestandteil des Kaninchenharns. Überraschenderweise gab aber diese Substanz mit Eisenchlorid eine deutliche Violettfärbung, was für Salizylsäure sprach. Weiter unten werden die Umstände klargelegt, die ihr Erscheinen erklärlich machen. Bei der sehr geringen Menge vorhandener Substanz verlief der Versuch, die Benzoesäure von der Salizylsäure nach der Methode von Schaap[2]) zu trennen, ergebnislos. Jedenfalls scheint aber die Menge der Salizylsäure bedeutend geringer gewesen zu sein als die der Benzoesäure, da der Schmelzpunkt der Substanz trotz nochmaligen Umkristallisierens konstant blieb.

Der Grund, warum die als Benzoesäure angesprochene Substanz auf Salizylsäure geprüft wurde, lag in folgendem. Nach dem Ausschütteln des Harns mit Essigäther, entsprechend der Vorschrift von Mosse und Neuberg, wurde er auf Jod-Ion geprüft und gab nun eine sehr intensive Reaktion. Da der frisch gelassene Harn diese

---

1) Hoppe-Seyler, 37, S. 433 ff.. 1902/03.
2) Zeitschr. f. analyt. Chem. 32, S. 107 (Referat).

Reaktion nicht gegeben hatte, war die Annahme berechtigt, daß während des Stehens des Harns eine Hydrolyse der Jodbenzoesäure in Jodwasserstoff bzw. Jodalkali und Salizylsäure stattgefunden habe:



Deshalb wurde eine größere Menge des ausgeschüttelten Harns mit frisch gefälltem Baryumkarbonat bis zu schwach alkalischer Reaktion gesättigt und filtriert. Eine Probe ergab mit H_2SO_4 keinen Niederschlag. Es waren also keine organischen Säuren vorhanden, die mit Baryum lösliche Salze gebildet hätten. Der Harn wurde nun auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft und wiederholt mit Alkohol ausgezogen. Der Rückstand in H_2O gelöst, gab angesäuert keine Jod-Ionreaktion mehr. Der Alkoholextrakt wurde eingedampft. Eine Probe ergab intensive Jod-Ionreaktion. Mit H_2O aufgenommen und mit $AgNO_3$ und konzentrierter HNO_3 behandelt, restierte ein flockiger gelber Niederschlag. Dadurch war die Gegenwart von Jodalkali sicher erwiesen.

Das Ergebnis der Verarbeitung des Harns ist also folgendes: Im frischen Harn befand sich organisch gebundenes Jod, das durch einen hydrolytischen Prozeß als Jodalkali abgespalten wurde. Die organische Verbindung war wahrscheinlich Jodbenzoesäure, aus der durch die Hydrolyse Salizylsäure entstand. Diese wurde in geringen Mengen mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen. Gefunden wurde außerdem mit fast absoluter Sicherheit Benzoesäure, ein normaler Bestandteil des Kaninchenharns. Jodhippursäure war nicht nachzuweisen. Neben der Benzoesäure fand sich eine braune Substanz, in der mit gewisser Wahrscheinlichkeit Jod nachgewiesen wurde. Es ist auffallend, daß im Verhältnis zu der gefundenen Menge Jod nur so wenig Salizylsäure gefunden wurde. Möglicherweise trat nach der Hydrolyse eine weitergehende Zerstörung der Salizylsäure ein.

Um den Vorgang der Hydrolyse näher kennen zu lernen, wurde normaler Harn vom Kaninchen mit neutraler Jodbenzoesäurelösung (und Chloroform gegen Fäulnis) versetzt. Nach bereits 3 Stunden war Jod-Ion nachzuweisen. Jodbenzosäure allein gibt die Jod-Ionreaktion nicht. Nach Ausschütteln des mit Schwefelsäure angesäuerten Harns mit Äther-Petroläther aa und Verjagen des Äthers gab der Rückstand, mit Wasser aufgenommen, mit Eisenchlorid nach mehrmaligem Filtrieren deutliche Violettfärbung, also Salizylsäure.

Um die Wirkung des im Kaninchenharn enthaltenen Ammonkarbonats kennen zu lernen, wurde 5%iges Ammonkarbonat mit Jodbenzoesäure stehen gelassen. Erst nach 18 Tagen gab die Lösung eine ganz schwache Jod-Ionreaktion.

Vergleichende Versuche ergaben, daß ganz frisch gelassener, mit Chloroform versetzter Kaninchenharn stark hydrolysierte, daß aber nach 15minutigem Kochen des Harns dieser erst nach einem Tage hydrolytisch wirkte, und niemals die Intensität der Reaktion des frischen Harns erreichte. Jodosobenzoesäure wurde sowohl von gekochtem wie von ungekochtem Harn erst nach 5 Tagen hydrolysiert; wahrscheinlich erst, als durch Reduktion eine gewisse Menge Jodbenzoesäure entstanden war. Ja, Jodosobenzoesäure hinderte sogar die Hydrolyse zugleich zugesetzter Jodbenzoesäure für 2 Tage. — Versuche mit menschlichem Harn, der durch Soda alkalisiert war, ergaben niemals Hydrolyse. — Es mag dahingestellt bleiben, ob es sich um Fermentwirkung oder Spaltung durch Bakterien handelte. Gegen letztere Annahme spricht, daß der Harn immer mit Chloroform gesättigt war, und daß menschlicher Harn, mit älterem, faulendem Kaninchenharn geimpft, selbst ohne Chloroform niemals Hydrolyse verursachte. Da eventuell diastatische Fermente in Betracht kommen, wurde ein Versuch mit Speichel angesetzt, aber mit negativem Resultat.

Durch den Nachweis dieses hydrolytischen Prozesses erklären sich vielleicht die Befunde von Heinz[1]). Er fand in den ersten Stunden nach Verabreichung von Jodosobenzoesäure per os beim Kaninchen kein Jodalkali, aber organisch gebundenes Jod, später fand er Jodalkali und schließt darauf auf eine Abspaltung innerhalb des Organismus. Wahrscheinlich hat der Harn vor der Untersuchung einige Zeit gestanden. Dann würden sich die Resultate nach den eben geschilderten Verhältnissen leicht erklären.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Jodosobenzoesäure hat nicht die Fähigkeit, die agglutinierende Wirkung des Abrins aufzuheben.

2. Jodosobenzoesäure hemmt das Wachstum von Bakt. Coli bis zu einer Konzentration 1 : 10000 gegenüber Jodbenzoesäure, die in der 100fachen Konzentration nicht hemmend wirkt.

3. Die Dosis letalis der Jodosobenzoesäure für den Frosch (Rana esculenta) beträgt 15—17 mg auf 100 g Tier. Der Tod erfolgt unter den Symptomen der fortschreitenden Lähmung.

Jodbenzoesäure ist mindestens zehnmal weniger giftig.

1) a. a. O. S. 80.

4. Die Wirkung der Jodosobenzoesäure auf das isolierte Froschherz ist eine negativ-inotrope und negativ-chronotrope. Sie ist irreversibel. Blut schwächt die Wirkung erheblich ab. Der pharmakodynamische Grenzwert scheint bei 0,001 % Jodosobenzoesäure zu liegen.

Jodbenzoesäure hat in gleicher Konzentration nur eine geringe negativ-chronotrope Wirkung. Der pharmakodynamische Grenzwert liegt bei 0,1 % Jodbenzoesäure. Die Vergiftung ist reversibel.

5. Die Erregbarkeit des isolierten Froschmuskels wird durch Jodosobenzoesäure nach längerer Zeit völlig aufgehoben. Dabei tritt gleichzeitig maximale Verkürzung und Starre des Muskels ein. Diese Erscheinungen sind nicht reversibel.

Jodbenzoesäure verursacht nur Abnahme der Erregbarkeit ohne Verkürzung und Starre. Selbst in zehnfach höherer Konzentration als im Versuch mit Jodosobenzoesäure ist die Erregbarkeitsabnahme reversibel.

6. Auf die Erregbarkeit des isolierten Froschnerven hat Jodosobenzoesäure keinen Einfluß.

Jodbenzoesäure in zehnfach höherer Konzentration unterbricht die Leitung im Nerven. Diese Wirkung ist reversibel.

7. Für Kaninchen beträgt bei intravenöser Einverleibung die Dosis letalis 0,15—0,2 g Jodosobenzoesäure pro Kilo. Während der Infusion treten Krämpfe und kurzdauernde Atempausen auf. Nach Anschluß von Registrierapparaten trat stets bei minimaler Menge Jodosobenzoesäure der Exitus ein. Exstirpation der Schilddrüse äußerte keinen Einfluß auf die Symptome während der Infusion.

8. Im Harn wurde Jod in organischer und anorganischer Bindung gefunden. Letzteres entsteht wahrscheinlich durch einen hydrolytischen Prozeß aus Jodbenzoesäure unter gleichzeitiger Bildung von Salizylsäure. Salizylsäure wurde mit großer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen.

9. Das Vorhandensein eines im Kaninchenharn vorhandenen, im Menschenharn fehlenden Jodbenzoesäure hydrolysierenden Fermentes wurde wahrscheinlich gemacht.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Karl Jahn, bin geboren am 30. Juli 1888 in Treuen als Sohn des Herrn Färbereibesitzers Franz Louis Jahn. Nach sechsjährigem Besuch der Volksschule daselbst und der dieser angegliederten Sprachabteilung siedelte ich Ostern 1901 an das Kgl. Gymnasium zu Zwickau über. Dort bestand ich Ostern 1908 die Reifeprüfung. Im Sommer-Semester 1908 studierte ich in Jena Medizin unter gleichzeitiger Ableistung der Hälfte des Militärjahres. Von Michaelis 1908 bis Ende Sommer-Semester 1913 studierte ich in Leipzig Medizin. Im Sommer 1910 bestand ich die ärztliche Vorprüfung, im Sommer 1913 das medizinische Staatsexamen. Von Anfang Sommer-Semester 1910 bis Ende des Sommer-Semesters 1911 arbeitete ich wissenschaftlich im Chemischen Laboratorium des Physiologischen Institutes unter Leitung von Herrn Prof. Siegfried. Das Resultat dieser Arbeit: »Quantitative Bestimmung geringer Eisenmengen« publizierte ich in Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie. Im Sommer-Semester 1912 begann ich die vorliegende Arbeit im Pharmakologischen Institut unter Leitung von Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Boehm und beendete sie am 2. August 1913. Vom 15. Juni bis 4. August 1913 war ich Medizinalpraktikant am Pharmakologischen Institut in Leipzig, vom 5. August 1913 bis 11. Februar 1914 am Kgl. Krankenstift zu Zwickau. Am 12. Februar 1914 siedelte ich an das Stadtkrankenhaus zu Chemnitz über, um hier den Rest des Praktikantenjahres abzuleisten.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.